

VITASSAY

H. pylori -Turbidimetric Assay-

Test rápido de detección cuantitativa de Helicobacter pylori en muestras de heces humanas.

IU-7115003 Ed04 Abril 2024



Únicamente para uso profesional de diagnóstico *in vitro*, personal entrenado en técnicas turbidimétricas.

USO PREVISTO

Vitassay H. pylori –Turbidimetric Assay- es una prueba rápida turbidimétrica para la detección cuantitativa de Helicobacter pylori (H. pylori) en muestras de heces humanas.

Ensayo sencillo, no invasivo y de alta sensibilidad que sirve de ayuda en el diagnóstico de una infección por Helicobacter pylori. Este producto ha sido optimizado para utilizar con cualquier auto analizador.

INTRODUCCIÓN

Helicobacter pylori (H. pylori) es una bacteria gram-negativa y en forma de espiral, es un patógeno humano microaeróbico. La infección por H. pylori está fuertemente relacionada con muchas enfermedades gastroduodenales, incluyendo gastritis crónica, úlcera péptica, gastritis trófica, mucosa asociada al tejido linfoide (MALT) y linfoma y cáncer gástrico.

H. pylori coloniza más del 50% de las personas en todo el mundo. Su prevalencia es relativamente alta en países en desarrollo. Los factores de riesgo para la infección por H. pylori incluye el estatus socioeconómico, área geográfica, edades y razas.

PRINCIPIO

Vitassay H. pylori –Turbidimetric Assay- es una prueba turbidimétrica, cuantitativa para la detección de Helicobacter pylori en muestras de heces humanas.

H. pylori Turbidimetric Assay, se basa en las reacciones de aglutinación antígeno-anticuerpo fijados a las partículas de látex de poliestireno. El aumento de la absorbancia (proporcional a la aglutinación producida) está relacionado con la cantidad de antígeno contenida en la muestra.

La utilización de dos controles externos Control 1 y Control 2, sirve para verificar el correcto funcionamiento de la prueba.

PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- Es necesario que el usuario esté entrenado en técnicas turbidimétricas y en el uso de autoanalizadores.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- No utilizar la prueba si los envases primarios se encuentran dañados.
- Las muestras deben considerarse potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso. Evitar errores de contaminación, seguir procedimiento adecuado de trabajo.

- Los reactivos tras su utilización deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).
- Los reactivos contienen conservantes. Debe evitarse cualquier contacto con la piel o las mucosas. Consultar fichas de seguridad, disponibles bajo petición.
- Los componentes proporcionados con el kit son aprobados para su uso con **Vitassay H. pylori -Turbidimetric Assay-**. No se deben usar con componentes de otros kits comercializados.
- Seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio, llevar ropa de protección adecuada, usar guantes desechables, gafas de protección y mascarilla. No comer, ni beber o fumar en la zona de trabajo.
- Si el rango de medición excede, utilizar el diluyente de muestra para diluir la muestra y repetir el ensayo de nuevo.
- Leer y seguir las instrucciones de uso proporcionadas en el kit.
- Preparar y ajustar el analizador antes de empezar las medidas.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

El producto debe ser almacenado en el rango de temperatura comprendido entre 2 y 8°C (35.6-46.4°F) para los reactivos y el diluyente de muestra puede conservarse refrigerado o a temperatura ambiente (2-30°C/35.6-86°F) en su envase original.

El producto es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta siempre que se hayan conservado en las condiciones recomendadas.

No congelar y mantener alejado de la exposición solar.

MATERIALES

MATERIAL SUMINISTRADO	MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO
<ul style="list-style-type: none">▪ Reactivo R1 (Tampón potenciador)▪ Reactivo R2 (Partículas de latex)▪ Calibrador 0▪ Calibrador 1▪ Calibrador 2▪ Calibrador 3▪ Calibrador 4▪ Calibrador 5▪ Control 1▪ Control 2▪ Viales H. pylori con diluyente para dilución de muestra.▪ Instrucciones de uso.▪ Tappones adicionales.	<ul style="list-style-type: none">▪ Recipiente para recogida de muestras.▪ Guantes desechables y equipamiento de laboratorio.▪ Vortex.▪ Analizador automático.▪ Microcentrifuga (10000g).

RECOGIDA DE MUESTRAS

La cantidad de heces tomada debe ser suficiente: 1-2 g o mL si la muestra es líquida. Las muestras deben ser almacenadas en un envase limpio y seco.

Las muestras pueden conservarse refrigeradas (2-8°C/35.6-46.4°F) como máximo 7 días antes de su uso. Si queremos conservar la muestra por un periodo prolongado, máximo 6 meses, debe congelarse a -20°C (-4°F). En este caso, la muestra debe ser totalmente descongelada alcanzando la temperatura ambiente antes de usarse. Homogeneizar la muestra lo máximo posible antes de su dilución en el vial.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. Etiquetar el vial con la identificación del paciente.
2. Abrir el tapón del vial de toma de muestra (en sentido anti horario) sin retirar el separador verde y usar el palito de toma de muestra para recoger la cantidad suficiente (figura 1).
3. Tomar la cantidad de muestra necesaria para la realización del test a partir de las heces recogidas. Para ello, introducir el palo de toma de muestra una sola vez en 4 zonas distintas de la muestra y girar repetidamente para que la muestra sea homogénea y asegurándose de que todas las ranuras están llenas de muestra (figura 2).
4. Eliminar el exceso de heces girando la varilla en la pared interna del recipiente.
5. Insertar el palito con la muestra en el vial a través del separador verde. Mientras cierra el tapón en sentido horario, mantenga sujeto el separador verde para evitar que se abra.
6. Agitar cada dispositivo (30-60 segundos), en un vortex para asegurar una buena dispersión del contenido (figura 3). Proceda al paso 7 si las ranuras no contienen muestra, de lo contrario repetir la agitación hasta un máximo de 120 segundos y proceder al paso 7 sin importar si hay alguna muestra residual en las ranuras. La muestra diluida en el vial puede ser almacenada en el frigorífico (2-8°C) hasta 7 días antes de realizar el ensayo y debe de llevarse a temperatura ambiente antes de ser analizada.
7. Centrifugar el vial durante 10 minutos a 1000-3000 x g con el fin de eliminar los posibles residuos de muestra. Alternativamente, puede dejar reposar el vial en posición vertical durante un mínimo de 15 minutos.
8. Coger el vial con la muestra diluida, quitar el tapón blanco y el separador verde (en sentido horario). La muestra fecal está lista para ser analizada. Insertar el dispositivo abierto directamente en el analizador o transferir el sobrenadante a un dispositivo adaptado (no suministrado) (figura 4).
9. Cerrar el vial mediante el tapón de rosca adicionalmente suministrado (figura 4).

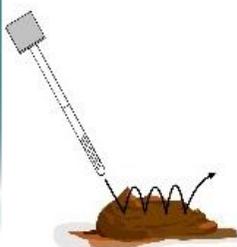
Nota: los viales de muestra no se deben usar directamente en el analizador.



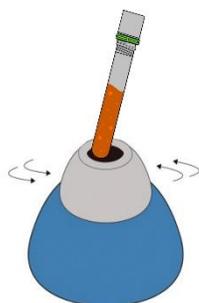
Vial de dilución de muestra.



Sacar el palito girando la rosca del tapón (sentido antihorario).



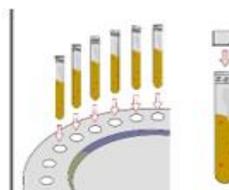
Toma de muestra en 4 zonas distintas.



Agitar en un vortex el vial de dilución de la muestra con diluyente+muestra. Centrifugar



Retirar el tapón blanco y el separador verde, girando en sentido horario.



Introducir los viales en el analizador. Después del análisis, cerrar el vial con el tapón adicional.

PROCEDIMIENTO

Reactivo R1 y Reactivo R2 están listos para usar.

Curva de calibración

Para la calibración utilizar únicamente H. pylori Calibrator: Cal0, Cal1, Cal2, Cal3, Cal4 y Cal5. Contienen antígeno de Helicobacter pylori a distintas concentraciones indicada en la etiqueta de cada uno de los viales.

	Referencia	Calibrador 1	Calibrador 2	Calibrador 3	Calibrador 4	Calibrador 5
Conc.	0 ng/mL	2.5 ng/mL	5 ng/mL	10 ng/mL	20 ng/mL	40 ng/mL
Vol.	1000 µL	1000 µL	1000 µL	1000 µL	1000 µL	1000 µL

Estos reactivos están listos para usar. La frecuencia en la realización de la recta de calibración la debe establecer el usuario final en función de los criterios establecidos por el laboratorio clínico.

Nota: ver apartado control de calidad.

Procedimiento analítico

Rango de medida: 1 – 40 ng H. pylori/mL.

Procedimiento	Pasos	
Adición R1	305 µL	0 s
Adición Muestra	15 µL	10 s
Adición R2	25 µL	300 s
Medida de blanco	450 nm – 800 nm	310 s
Medida principal	450 nm – 800 nm	610 s

*Datos obtenidos mediante el analizador Biolis i24 (Tokio Boeki)

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Resultados negativos: concentraciones menores al límite de detección de 0.8 ng de antígeno H. pylori/mL (*).

Los resultados negativos determina la ausencia de H. pylori en niveles superiores al límite de detección.

Zona gris: concentraciones intermedias a 0.8-1 ng de antígeno de H. pylori/mL. Para estos valores cercanos al límite de detección, se recomienda una segunda toma de muestra para clarificar el diagnóstico. En caso de que el segundo resultado también estuviera comprendido en este rango de concentraciones se recomienda hacer un seguimiento del paciente un tiempo después.

Resultados positivos: concentraciones superiores a 1 ng de antígeno H. pylori/mL.

Los resultados positivos determina la presencia de H. pylori en la muestra de heces humanas.

(*) Todos los datos previos han sido obtenidos mediante el analizador Biolis 24i (Tokyo Boeki). Los valores del límite de detección dependen del analizador usado por ello los valores pueden variar desde 0.5 a 1 ng H. pylori/mL dependiendo del equipo usado.

CONTROL DE CALIDAD

H. pylori C1 & C2 Controls están listos para usar.

H. pylori Control 1: es un control líquido a una determinada concentración de Helicobacter pylori (menor que Control 2). Dicha concentración es indicada en la etiqueta del reactivo.

H. pylori Control 2: es un control líquido a una determinada concentración de Helicobacter pylori (mayor que Control 1). Dicha concentración es indicada en la etiqueta del reactivo.

El uso de controles a dos concentraciones distintas se recomienda para verificar la precisión del test.

Si los resultados obtenidos están fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el procedimiento, equipo, los reactivos y/o repetir la prueba. Si el problema persiste, dejar de utilizar los reactivos y contactar con su distribuidor.

NOTA: El rango de valores de los controles del kit se encuentra indicado en las etiquetas de los tubos correspondientes, tanto para el Control 1 como para el Control 2. Para más información, solicite y consulte el certificado de análisis (no incluido).

LIMITACIONES

- **Vitassay H. pylori -Turbidimetric Assay** debería usarse únicamente para la detección de Helicobacter pylori en muestras de heces humanas.
- La calidad de la prueba **Vitassay H. pylori -Turbidimetric Assay** depende de la calidad de la muestra, por lo que se debe realizar una adecuada toma de muestra.
- Los resultados positivos determinan la presencia Helicobacter pylori en muestras de heces. Un resultado positivo debería ser contrastado con otras técnicas diagnósticas invasivas (endoscopia) para confirmar los resultados.
- Los resultados positivos pueden ser obtenidos incluso cuando los síntomas han desaparecido.
- Un resultado negativo no debe de ser considerado como concluyente, puede darse que la concentración de antígenos en la muestra de heces sea inferior al valor del límite de detección. Si los síntomas o la situación persisten, se debería de repetir la

prueba con la muestra previamente sometida a enriquecimiento o se debería utilizar otras técnicas invasivas.

VALORES ESPERADOS

La infección por H. pylori afecta a más del 50% de los adultos y es la mayor causa de úlceras pépticas y cáncer gástrico. La prevalencia de la infección de H. pylori varía ampliamente según el área geográfica, la edad, la raza y el estado socioeconómico. Por lo general, la prevalencia de H. pylori aumenta con la edad en la mayoría de los países, causando más del 80% de las enfermedades ulcerosas y del 75% del cáncer gástrico provocando más de un millón de muertes al año en todo el mundo.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Sensibilidad analítica:

Límite de detección: 0.8 ng/mL.

Prozona:

Concentraciones inferiores a 0.2 mg/mL no muestran efecto prozona y no se observan resultados falsos negativos.

Within-Run Precision:

	Baja (1 ng/mL)	Media (10 ng/mL)	Alta (40 ng/mL)
N	20	20	20
Media (ng/mL)	1.08	10.23	39.76
DS (ng/mL)	0.12	0.79	2.01
CV (%)	11	8	5

*Datos obtenidos mediante el analizador Biolis i24 (Tokio Boeki)

Reacciones cruzadas:

No se detectaron reacciones cruzadas con las siguientes bacterias ocasionalmente presentes en las heces:

<i>Campylobacter Coll</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Salmonella paratyphi</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>C. difficile Toxin B</i>	<i>Salmonella Typhi</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Escherichia coli O157</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Yersinia enterocolitica O:3</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella sonnei</i>	<i>Yersinia enterocolitica O:9</i>

BIBLIOGRAFÍA

1. Urrego J., Otero W., Gómez M. A review of Helicobacter Pylori and Colon Cancer. Rev Col Gastroenterol/29 (3) 2014.
2. Wang Y-K, Kuo F-C, Liu C-J., Wu M-C., Shih H-Y., Wang S-S., Wu J-Y., Kuo C-H., Huang Y-K., Wu D-C. Diagnosis of Helicobacter

pylori infection: Current options and development . World. J. Gastroenterol. 2015 October 28; 21(40):11221-11235.

3. Lee Y-C., Chiu H-M., Chiang T-H. Accuracy of faecal occult blood test and Helicobacter pylori stool antigen test for detection of upper gastrointestinal lesions. BMJ Open 2013; 3:e003989.

SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

IVD	Producto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Almacenar en lugar seco
	Consultar las instrucciones de uso		Limitación de temperatura
	Fecha de caducidad		Fabricante
LOT	Número de lote		Contiene <n> test
DIL	Diluyente de muestra	REF	Número de referencia
	Manténgase fuera de la luz del sol		



EQUIPOS ADAPTADOS

- Biolis 24i/Biolis 50i
- BS200E (Mindray)
- ChemwellIT (Awareness)
- TC220 (Tecom)

